

© НОВИКОВА И.А., БУЛАВКИН В.П., 2002

## НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ГНОЙНОЙ ИНФЕКЦИИ

НОВИКОВА И.А., БУЛАВКИН В.П.

*Витебский государственный медицинский университет,  
Кафедра клинической лабораторной диагностики,  
Кафедра госпитальной хирургии*

**Резюме.** Изучена клинко-иммунологическая эффективность различных способов применения очищенного стафилококкового анатоксина (ОСА) у больных хронической гнойной инфекцией стафилококковой этиологии: стандартная схема (введение подкожно) и экстракорпоральное применение (обработка ОСА аутолейкоцитов *in vitro* с последующей реинфузией больному). Выявлено, что применение ОСА по экстракорпоральной схеме дает максимально быстрый и стабильный лечебный эффект при 3-х кратном снижении дозирования препарата и отсутствии побочных реакций. Одновременно устраняются явления вторичного иммунодефицита (нормализация субпопуляционного состава и функциональных свойств лимфоцитов и нейтрофилов).

**Ключевые слова:** иммунокоррекция, гнойная инфекция.

**Abstract.** The clinico-immunological effectiveness of various methods of using purified staphylococcus anatoxin (PSA) in patients with chronic purulent infection of staphylococcus etiology: standard scheme (subcutaneous injections), and extracorporeal using (treatment of autoleukocytes with PSA *in vitro* with the subsequent reinfusion) has been studied. It has been established, that the using of PSA according to extracorporeal scheme gives a maximally quick and stable curative effect in case of a 3-fold reduction of drug dosage and absence of adverse reactions. Simultaneously the symptoms of the secondary immunodeficiency are eliminated with the resultant normalization of subpopulation composition and functional properties of lymphocytes and neutrophils in peripheral blood.

В настоящее время доказана ведущая роль иммунологических нарушений в патогенезе и клиническом течении гнойной хирургической инфекции [6,7]. Поэтому необходимость введения в комплекс лечебных мероприятий при данной патологии иммунокорректирующих средств бесспорна. С этой целью достаточно широко используется очищенный стафилококковый анатоксин (ОСА), который способен не только создавать специфический протективный иммунитет, но и вызывать модуляцию неспецифической иммунологической реактивности [4,5]. Продемонстрирован хороший лечебный эффект ОСА в рамках комплексной терапии больных с острыми воспалительными и гнойно-септическими заболеваниями [5,6]. В то же

время при хроническом рецидивирующем течении гнойных заболеваний ожидаемого эффекта часто получить не удастся, что обусловлено формированием в течение заболевания стойких патологических механизмов функционирования иммунной системы, что приводит к извращению чувствительности иммунокомпетентных клеток больных к иммуномодулирующим факторам [6]. Кроме того, могут развиваться побочные эффекты в виде повышения температуры тела, недомогания, ухудшения самочувствия больных. В связи с этим весьма актуальна разработка новых способов применения бактериальных антигенов, ведь организм хронических больных и так перегружен бактериальными продуктами.

Одним из перспективных направлений современной иммунофармакологии является, так называемая, "адаптивная"

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра клинической лабораторной диагностики - Новикова И.А.

или "экстракорпоральная" иммунокоррекция, основанная на обработке клеток *in vitro* различными иммуномодуляторами с последующим обратным введением в организм больного [1,3,10]. Продemonстрировано, что экстракорпоральное применение препаратов как с иммуностимулирующими, так и с иммунодепрессивными свойствами (тималин, диуцифон, преднизолон и др.) позволило значительно оптимизировать результаты лечения у больных терапевтического и хирургического профиля за счет повышения эффективности действия иммуномодуляторов, возможности строгого контроля за дозировкой препаратов [2,8,11,12].

Цель настоящей работы - сравнительный анализ клинико-иммунологической эффективности стандартного и экстракорпорального применения стафилококкового анатоксина у больных рецидивирующей гнойной инфекцией.

### Материалы и методы

Объектом исследования были 27 больных рецидивирующей гнойной инфекцией (рецидивирующий фурункулез-12 человек, стрептостафилодермия - 15 человек.) в возрасте от 16 до 40 лет. Мужчин - 18, женщин - 9. Длительность анамнеза составила от 3-х до 5 лет. За это время все больные неоднократно подвергались лечению, включающему, как правило, антибиотикотерапию и пассивную иммунотерапию (антистафилококковый гамма-глобулин, антистафилококковая плазма), имея в то же время до 2-3 рецидивов в год.

Больные разделены на 2 группы. В 1 группе больных (15 человек) в общем комплексе лечебных мероприятий проводилась терапия очищенным адсорбированным стафилококковым анатоксином (производство "Биомед", г.Пермь) по общепринятой схеме ускоренной иммунизации - 4 инъекции нарастающими дозами, начиная с 0,5 мл до 2 мл с интервалом 3 дня. У больных 2 группы (12 человек) комплексное лечение дополнялось применением ОСА экстракорпорально по разработанной нами схеме. Группы больных были рандомизированы по полу, возрасту, тяжести и длительности болезни. Наблюдение за больными

проводили в течение 2-х лет с момента обследования и лечения.

Методика экстракорпорального применения анатоксина была следующей. Из 500 мл венозной крови больного в стерильных условиях выделяли лейкозвесь, отмывали от плазмы, разводили в 200 мл физиологического раствора, добавляли ОСА из расчета 1 мл анатоксина на  $2-4 \times 10^9$  клеток, инкубировали в термостате при  $37^\circ\text{C}$  в течение 30 минут. После инкубации лейкоциты отмывали от анатоксина, разводили в 200 мл физиологического раствора и реинфузировали больному внутривенно капельно. Курс лечения состоял из 3-х процедур с интервалом 2 дня. Оптимальная доза и кратность воздействия определялась в предварительных экспериментах *in vitro* в модельной системе выделенных лейкоцитов.

Клинико-иммунологические исследования проводили в динамике до начала лечения и при его завершении. Оценка клинического статуса производилась по общепринятым параметрам, а также учитывалось количество рецидивов заболевания после окончания курса терапии. Иммунологическое обследование включало количественную оценку популяций и субпопуляций лимфоцитов рутинными методами в реакции розеткообразования, а также с моноклональными антителами (МКАТ) серии ICO (НПЦ "МедБиоСпектр") в реакции непрямой иммунофлуоресценции. Использованы МКАТ серии ICO-86 (анти-CD4) против хелперов/индукторов, ICO-31 (анти-CD8) против супрессоров/цитотоксических клеток, ICO-90 (анти-CD3) против зрелых Т-клеток, ICO-91 (анти-CD22) против В-лимфоцитов, ICO-1 и ICO-105, против соответственно HLA-DR антигенов и рецепторов к IL-2, позволяющих выявлять активированные Т-клетки. Для характеристики популяции гранулоцитов оценивали их метаболическую активность в спонтанном и стимулированном вариантах теста восстановления нитротетразолия синего (НСТсп, НСТст) [9]. Формирование специфического иммунитета контролировали по титру антител к стафилококковому токсину в сыворотке в реакции нейтрализации гемолитических свойств стафилотоксина.

Обработку результатов производили с использованием пакета прикладных программ Statgrafic Plus.

### Результаты и их обсуждение

Результаты обследования больных обеих групп до начала лечения показали наличие у них комбинированного иммунодефицитного состояния, что проявлялось снижением по сравнению с нормальными значениями уровня общей популяции Т-лимфоцитов, величины иммунорегуляторного индекса, функционального резерва нейтрофилов, низкими титрами антистафилококковых антител (Таблица 1).

У всех больных произведен посев содержимого очагов на микрофлору и чувствительность к антибиотикам. Высеян золотистый стафилококк, резистентный к большому количеству широко применяемых антибиотиков. После вскрытия и санации очагов начата иммунокорригирующая терапия. Реакция на введение анатоксина, проявляющаяся признаками местного воспаления, наблюдалась у 4-х больных 1 группы. Во второй группе побочных явлений не отмечено. Лечение переносилось больными хорошо.

Сравнение результатов стандартной и оригинальной схем применения ОСА показало, что последняя позволяет достичь более выраженного клинического эффекта. Уже после первой процедуры наблюдалось снижение температурной реакции, очищение ран, исчезновение пустулезных элементов, ограничение распространения процесса. Максимальная выраженность эффекта отмечалась после третьей процедуры. Сравнительный анализ показателей иммунитета до и после проведения иммунотерапии выявил четкий иммунокорригирующий эффект оригинальной схемы применения ОСА. Из данных таблицы 1 видно, что у больных, получивших анатоксин экстракорпорально, статистически достоверно увеличивалось относительное содержание  $CD3^+$ ,  $CD4^+$  Т-лимфоцитов ( $P < 0,02$ ), что наряду с некоторым снижением  $CD8^+$  клеток привело к нормализации соотношения иммунорегуляторных субпопуляций ( $P < 0,02$ ). Одновременно наблюдалось усиление эксп-

рессии активационных маркеров лимфоцитов ( $CD25$ ,  $HLA-DR$ ), что свидетельствует о восстановлении общей иммунологической реактивности организма. Отмечалась также выраженная положительная динамика функциональных показателей фагоцитирующих клеток: увеличение фагоцитарного индекса и функционального резерва нейтрофилов ( $P < 0,001$ ). Как видно из таблицы, применение оригинальной схемы позволило достичь нормализации неспецифической иммунологической резистентности у больных по 10 параметрам, а использование стандартной схемы — лишь по 2-м. Напряженность специфического иммунитета, оцениваемая по титру антистафилококковых антител, у больных 2 группы через 1 неделю после иммунизации также оказалась достоверно выше, чем при стандартном применении анатоксина ( $P < 0,001$ ). Таким образом, стандартная иммунизация не устраняет явлений вторичного иммунодефицита, что, вероятно, и обуславливает небольшую длительность межрецидивного периода в данной группе больных. Только у 3-х больных, иммунизированных ОСА по стандартной схеме (20%), длительность ремиссии составила 4-6 месяцев, а у большинства пациентов (80%) не превысила 2-х месяцев. В то же время во второй группе в 86% случаев в течение 2-х лет (срок наблюдения) рецидивы отсутствовали, что позволяет говорить о выздоровлении больных.

Следует отметить, что приведенные выше данные касаются лечебной эффективности ОСА в общем комплексе лечебных мероприятий у данной категории больных. Однако под нашим наблюдением находились 2 больных с диагнозом абсцедирующие вульгарные угри лица, резистентные к антибиотикам, которые получили лечение только анатоксином по экстракорпоральной схеме. При отсутствии побочных реакций у этих больных достигнуто полное купирование острого воспалительного процесса с хорошим косметическим эффектом и отсутствие рецидивов в срок наблюдения 2 года. Полученные исследования подтверждают наличие собственного выраженного иммунокорригирующего эффекта испытываемого способа.

Таблица 1  
Динамика иммунологических показателей у больных рецидивирующей гнойной инфекцией при различных способах применения ОСА.

Иммунологический показатель	Больные, I группа, n = 15		Больные, II группа, n = 12	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Е а- РОК, %	30,1 ± 1,3	30,6 ± 1,1	29,1 ± 1,6	26,1 ± 0,8 (**)
Е – РОК, %	44,3 ± 1,3	51,0 ± 1,1*	45,3 ± 1,9	52,9 ± 1,6*
CD 3 <sup>+</sup> лимфоциты, %	46,6 ± 1,5	52,1 ± 1,5	47,4 ± 2,0	54,1 ± 1,4*
CD 4 <sup>+</sup> лимфоциты, %	25,3 ± 0,8	28,1 ± 1,2	25,9 ± 1,5	33,1 ± 1,0* (**)
CD 8 <sup>+</sup> лимфоциты, %	26,9 ± 1,3	24,3 ± 1,5	24,7 ± 0,9	20,9 ± 0,9* (**)
CD 4 <sup>+</sup> / CD 8 <sup>+</sup>	0,9 ± 0,07	1,2 ± 0,09	1,1 ± 0,09	1,6 ± 0,09 *
CD 22 <sup>+</sup> лимфоциты, %	11,7 ± 2,4	10,3 ± 1,9	11,2 ± 1,7	12,1 ± 1,6
CD 25 <sup>+</sup> лимфоциты, %	9,7 ± 0,7	10,2 ± 1,0	10,3 ± 0,7	14,3 ± 1,4* (**)
HLA-DR <sup>+</sup> лимфоциты, %	10,8 ± 0,8	12,5 ± 1,2	12,1 ± 1,1	24,1 ± 1,4*
ЦИК, усл.ед.	150,1 ± 10,6	78,8 ± 7,6*	135,0 ± 10,6	70,7 ± 6,8*
НСТ сп %	11,2 ± 0,9	13,3 ± 0,8	11,0 ± 1,2	9,3 ± 0,6 (**)
НСТ ст, %	36,5 ± 2,9	39,9 ± 1,1	36,1 ± 1,4	51,1 ± 1,4* (**)
Фагоцитарный индекс, %	49,8 ± 1,1	48,9 ± 1,5	51,7 ± 0,8	56,3 ± 0,8* (**)
Фагоцитарное число	4,8 ± 0,3	4,9 ± 0,2	5,6 ± 0,6	5,3 ± 0,6
Титр АТ к стафилококку, ME	1,1 ± 0,4	2,6 ± 0,6*	0,7 ± 0,2	5,4 ± 0,9* (**)

Примечание: \* - различия достоверны по сравнению со значениями до лечения (P < 0,05), \*\* - различия показателей сравнимых групп после лечения.

## Выводы

Проведенные исследования показали, что применение ОСА экстракорпорально обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционным введением: позволяет получить максимально быстрый, более выраженный и стабильный клинико-иммунологический результат при значительно меньшей дозе антигенной нагрузки на организм, не дает побочных реакций, позволяет добиться как стимуляции специфического иммунитета, так и нормализации показателей неспецифической иммунологической реактивности, и, как следствие, полноценной иммунореабилитации больных. Подбор больных следует вести по клиническим и иммунологическим критериям. Клиническими критериями для применения ОСА являются часто рецидивирующие гнойно-воспалительные заболевания. Иммунологические критерии – нарастающие симптомы иммунологической недостаточности: снижение общего количества Т-лимфоцитов, дисбаланс регуляторных субпопуляций, снижение функционального резерва и поглотительной активности нейтрофилов, низкий титр антистафилококковых антител. Учитывая определенные иммунологические особенности хронических рецидивирующих инфекций (сформировавшийся стойкий иммунодефицит, нарушение нормальных межклеточных взаимодействий и адекватной реакции на иммуномодуляторы, повышенную и постоянную антигенную нагрузку) применение иммуномодуляторов по экстракорпоральной схеме у таких больных, следует считать наиболее целесообразным, особенно в случаях, когда больной получает другие методы экстракорпоральной гемокоррекции.

## Литература

1. Лесков В.П., Гущин И.С. Экстракорпоральная иммунофармакотерапия // Пульмонология. - 1993. - № 3. - С. 17-19.
2. Новикова И.А., Булавкин В.П. Подходы к экстракорпоральной терапии больных гнойной хирургической инфекцией // Белорусский международный конгресс хирургов, 1-й. Тезисы. - Витебск, 1996. - С.272-274.
3. Опыт использования экстракорпоральной иммунотерапии в лечении хирургических больных с гнойно-септическими заболеваниями / Останин А.А., Пальцев А.В., Леплина О.Ю. и др. // Медицинская иммунология. - 2000. - Т.2, N 1. - С.43-51.
4. Семенова И.Б., Деева А.В., Пронин А.В. Влияние иммуномодулирующих доз анатоксина стафилококкового очищенного на спонтанную и митогениндуцированную пролиферацию спленоцитов мышей // Журн. микробиол. - 1997. - № 2. С.57-60.
5. Семенова И.Б. Принципы коррекции вторичных иммунодефицитов двумя различными по своей природе иммуномодуляторами - анатоксином стафилококковым очищенным и ликолипидом // Журн.микробиол. - 1998. - №1. - С.100-104.
6. Стручков В. И., Недвецкая Л.М., Прозоровская К.Н. Иммунология в профилактике и лечении гнойных хирургических заболеваний. - М., 1978.
7. Состояние факторов иммунной защиты и их коррекция у больных хроническими воспалительными заболеваниями нижних конечностей / Гостищев В.К., Пауков В.С., Шкроб Л.О. и др. // Хирургия. - 1996. - N 5. - С.43-47.
8. Юдина С.М., Гапонов А.М, Пиреев В.М. Экстракорпоральная иммунофармакотерапия больных сепсисом и тяжелой гнойной инфекцией // Вестн.интенс.терапии.-1995.- N2.- С.44-48.
9. Baechner R. G., Nathan D. J. Leucocyte oxidase defective activity in chronic granulomatous disease // Science. - 1967. - Vol. 155. - p. 835-837.
10. Cheever M.A., Chen W. Therapy with cultured Tcells: Principles revisited // Immunol. Rev. - 1997. - N.157. - P. 177-194.
11. Differences between in vivo and in vitro activation of cancer patient lymphocytes by recombinant interleukin-2: possible role for lymphokine-activated killer cell infusion in the in vivo -induced activation / Gambacortrti-Passerini C., Rivoltini L., Radrizzani M. et al.// Cancer Res.-1989.- Vol.49, N9.- P.5230-5234.
12. The efficiency of extracorporeal treatment by immunodepressants in rheumatoid poliartthritis / Novikova I.A., Bulavkin V.P., Ermolova L.A. et al. // International Symposium on Clinical Immunology, 4-th. - Amsterdam, 1997. - P.128.

Поступила 27.10.2000г.

Принята в печать 01.03.2001г.